

#### 4. PEMBAHASAN

Tempe kedelai merupakan produk fermentasi kacang kedelai dengan banyak manfaat untuk kesehatan. Salah satu manfaat tempe kedelai yang belum banyak diketahui masyarakat adalah dalam kaitannya untuk mengatasi diare. Banyak peneliti menyarankan bahwa tempe dapat berguna sebagai suatu suplemen bernutrisi dalam terapi rehidrasi oral dan mempercepat proses penyembuhan hewan muda dan anak-anak, yang memiliki resiko terbesar untuk terkena diare enterotoksin dan malnutrisi.

Pengaplikasian tempe yang sederhana dan mudah adalah dengan diseduh air hangat dan air seduhannya dikonsumsi oleh penderita diare infeksi. Namun, pengolahan dengan panas (penggorengan dan perebusan) yang dilakukan berlebihan dapat mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi, baik yang diharapkan maupun yang tidak. Reaksi ini dipengaruhi oleh suhu dan lama pemanasan, pH, oksidator, antioksidan, radikal, dan senyawa aktif lainnya khususnya senyawa karbonil (Winarno, 1997). Oleh karena itu pada penelitian ini tempe segar diseduh dengan air dengan suhu dan waktu perendaman yang berbeda, dan kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri pada air seduhannya. Tempe yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan tempe kedelai tipis yang dibungkus dengan daun pisang berumur 2 malam. Umumnya tempe yang sudah berumur 2 malam merupakan tempe yang segar yang dijual dipasaran dan siap dikonsumsi.

##### 4.1. Aktivitas Anti-bakteri Ekstrak Seduhan Tempe

Berdasarkan hasil pengujian dari Tabel 6, air seduhan tempe dengan perlakuan suhu perendaman 50°C tidak menghasilkan zona bening, baik pada bakteri uji *Bacillus cereus* maupun *Escherichia coli*. Zona bening yang terbentuk hanya didapati pada kontrol positif sebesar 3,5 cm pada kedua bakteri uji. Oleh karena tidak adanya diameter hambat pada sampel air seduhan, maka penelitian dengan metode sumuran ini tidak dapat dianalisa lebih lanjut.

Aktivitas antibakteri dijumpai pada media kultur kasein terhidrolisa dari kapang *R. oligosporus* yaitu berupa protein dengan berat molekul 5,5 kDa terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, namun tidak pada *E. coli* (Kobayasi *et al.*, 1992). Hal ini mendukung penelitian Kiers *et al.* (2002) aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram ekstrak tempe tidak terlihat pada bakteri uji *E.coli*, sedangkan sedikit terlihat pada bakteri uji *Bacillus subtilis* pada sampel tempe yang difermentasikan dengan *Rhizopus oligosporus* LU 2014. Penelitian tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini dimana tidak didapati aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dan *Bacillus cereus* dengan tidak adanya zona bening. Namun tidak sesuai dengan hasil penelitian Fadahunsi *et al.* (2013), dimana dengan metode sumuran dihasilkan aktivitas antimikroba dari metabolit hasil *R. oligosporus* NRRL 2710 terhadap bakteri uji *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Corynebacteria diphtheria*, dan *Proteus mirabilis*. Metabolit hasil *R. oligosporus* NRRL 2710 ini efektif pada perlakuan suhu rendah (maksimal 60°C) untuk periode waktu yang lebih lama (20-60 menit).

Tidak munculnya zona bening pada sampel air seduhan tempe ini dapat terjadi karena senyawa yang menunjukkan aktivitas antibakteri sangat kecil jumlahnya yang terlarut dalam aquades. Menurut Thomas *et al.* (2012), jenis pelarut yang digunakan, konsentrasi pelarut, dan metode ekstraksi merupakan faktor ekstrinsik yang penting dalam menentukan sifat antibakteri yang diekstraksi dari suatu bahan. Selain itu, diameter hambat yang besar berhubungan dengan berat molekul yang rendah dan laju difusi dari komponen antibakteri yang cepat pada media agar. Dalam penelitian yang dilakukan Mambang *et al.* (2014), ekstrak tempe yang diperoleh dengan pelarut etanol dan etil asetat dengan metode difusi cakram memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 500,400, dan 300 mg/ml.

Pada penelitian oleh Affandi dan Mahmud (1985), ekstrak tempe yang dibuat dari biakan murni *R. oligosporus* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada *E. coli* dan *Klebsiella pneumonia*, namun menunjukkan aktivitas antibakteri yang

menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Shigella flexneri*. Kemudian penelitian oleh Roubos-van den Hil *et al.* (2010b), menunjukkan bahwa selama fermentasi tempe kedelai oleh *Rhizopus*, terdapat suatu senyawa dengan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *Bacillus cereus* dan sporanya yaitu berupa molekul peptide dengan berat molekul kurang dari 3kDa. Metode yang digunakan dalam penelitian tersebut tidak menggunakan difusi cakram atau sumuran, namun dengan pengukuran densitas optik media pertumbuhan bakteri atau turbidimetri.

Oleh karena dengan metode sumuran tidak bisa dilanjutkan untuk menganalisa aktivitas antibakteri pada air seduhan tempe, maka dilakukan penelitian dengan metode turbidimetri menggunakan alat spektrofotometri dengan panjang gelombang 550 nm. Metode turbidimetri mengukur berdasarkan kekeruhan larutan media yang diuji. Semakin keruh larutan uji, semakin besar absorbansi, dan semakin besar jumlah mikroorganisme yang bertumbuh dalam larutan media uji.

Berdasarkan data pada Tabel 7, suhu perendaman 40°C menunjukkan persentase aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan suhu perendaman 50°C, dan 60°C pada semua bakteri uji. Hal ini menunjukkan senyawa yang menunjukkan aktivitas antibakteri dalam tempe sensitif terhadap suhu tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) yang menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri oleh senyawa yang dihasilkan selama fermentasi oleh kapang bersifat sensitif terhadap panas, pH rendah, dan protease. Aktifnya komponen antibakteri setelah proses fermentasi oleh *R. micosporus* ini menunjukkan komponen antibakteri berasal dari hasil degradasi protein kedelai dan mengindikasikan bahwa kapang dan bakteri asam laktat yang bertumbuh selama fermentasi tempe berperan tidak langsung menghasilkan komponen antibakteri ini. Hal ini didukung oleh penelitian Roubos *et al* dalam Kuligowski *et al.* (2013) menyebutkan bahwa komponen yang menunjukkan aktivitas antibakteri dalam tempe kedelai merupakan komponen peptida dengan berat kurang dari 3 kDa.

Kadar protein dalam tempe dan kedelai hampir sama, namun kadar protein terlarut pada tempe meningkat tajam karena aktivitas enzim protease yang dihasilkan kapang selama fermentasi. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa kualitas protein dalam tempe sedikit lebih tinggi daripada kacang kedelai yang tidak difermentasi (Astuti *et al.*, 2000). Hal ini disebabkan oleh kapang dan khamir yang dapat menghidrolisa protein kedelai menjadi protein dengan kelarutan lebih tinggi, sedangkan bakteri asam laktat tidak dapat menghidrolisa protein kedelai karena pada penelitian Roubos-van den Hil *et al.* (2010) tempe dengan starter bakteri asam laktat menghasilkan amino bebas yang tetap sama dan penurunan pH. Oleh karena itu, dapat dikatakan proses fermentasi enzimatik dari kapang berperan penting dalam pembentukan komponen antibakteri.

Pada penelitian Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) senyawa antibakteri akan hilang secara perlahan saat dipanaskan lebih dari 60°C. Persentase aktivitas antibakteri yang hilang pada tempe 24 jam dan tempe 48 jam yang dipanaskan lebih dari 60°C adalah 20% dan 60% secara berurutan. Pada tempe dengan waktu fermentasi 24 jam lebih tahan terhadap pemasakan dibanding tempe dengan waktu fermentasi 48 jam. Hal ini dapat menjadi penyebab kecilnya aktivitas antibakteri pada sampel tempe penelitian ini yang berumur 48 jam atau inkubasi 2 malam.

Hasil pengukuran pH pada Tabel 8 menunjukkan penurunan nilai pH dan suhu air seduhan tempe seiring perendaman selama 60 menit, dimana penurunan pH antar pelakuan tidak jauh berbeda. Penurunan pH selama perendaman tempe ini dapat disebabkan oleh mikroorganisme yang masih bertumbuh didalam tempe. Seperti yang disebutkan Samson *et al.* (1987) bahwa tempe merupakan hasil fermentasi kultur campuran, dimana tidak hanya kapang yang hidup dalam tempe, namun terdapat juga khamir, bakteri asam laktat, dan beberapa jenis bakteri gram-negatif. Bakteri dan khamir akan terus bertumbuh dalam produk tempe yang telah jadi dan akan terus bertumbuh selama proses penyimpanan pada suhu ruang. Tingginya jumlah bakteri asam laktat yang berada dalam tempe yang diseduh akan menghasilkan asam organik sehingga membuat pH seduhan tempe menurun seperti yang terjadi dalam proses perendaman kedelai sebelum proses fermentasi

kapang (Nout dan Rombout, 1990). Hasil pH yang menurun ini juga menunjukkan bahwa selama proses penyeduhan tidak terjadi proses degradasi senyawa protein menjadi asam amino dan asam ammonia yang menyebabkan kenaikan pH (Sparringa dan Owens, 1999).

Penurunan nilai pH terbesar didapati pada penyeduhan suhu awal 60°C, yaitu menjadi pH 5,53 dengan suhu akhir penyeduhan yaitu 37 °C (Tabel 8). Sedangkan nilai pH tertinggi pada akhir waktu perendaman adalah pada perlakuan suhu 40°C dengan suhu akhir 33°C, yaitu pH 5,6. Walaupun perbedaan pH yang dihasilkan dari suhu yang berbeda hanya kecil, hal ini menunjukkan suhu penyeduhan mempengaruhi terekstraknya asam organik dari tempe ke dalam air. Oleh karena itu pH seduhan tempe dengan perlakuan suhu 60°C lebih rendah, sehingga rendahnya pH mengakibatkan menurunnya aktivitas antibakteri dalam ekstrak tempe.

Pada penelitian ini, nilai pH yang tertinggi pada perlakuan suhu 40°C menunjukkan persentase aktivitas antibakteri yang terbesar. Hal ini sesuai dengan penelitian Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi perlakuan pH dan suhu rendah pada ekstrak tempe maka aktivitas antibakterinya semakin besar. Dengan kata lain, untuk mendapatkan aktivitas antibakteri yang besar terhadap bakteri *B. cereus*, tempe harus diekstrak dengan suhu rendah dan pH diatas netral (pH 7-9).

Persentase aktivitas antibakteri paling kecil pada suhu perendaman 40°C didapati pada bakteri uji *Salmonella typhi* pada waktu inkubasi 90 menit, yaitu 7, 92%, dimana pada waktu inkubasi sebelumnya (menit ke-30 dan 60) tidak menunjukkan aktivitas penghambatan yang ditunjukkan dengan hasil minus. Sedangkan persentase aktivitas antibakteri paling besar pada suhu perendaman 40°C didapati pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada waktu inkubasi ke-60 menit, yaitu 52,38%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri pada air seduhan tempe lebih menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *S. aureus* dan *B. cereus* dibanding bakteri Gram negatif seperti *E. coli* dan *S. typhi*. Hal ini sesuai

dengan penelitian-penelitian efek anti-bakteri pada Tabel 5, dimana senyawa antibakteri pada tempe hanya aktif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan sporanya. Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak tempe terhadap sel *B. cereus* dan sporanya dihasilkan selama fermentasi tempe dengan mekanisme permeabilisasi membran sitoplasma bakteri. Bakteri Gram negatif seperti *E. coli* memiliki dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (11-22%). Struktur dinding selnya berlapis tiga (multilayer) yang terdiri atas lipoprotein, membran luar fosfolipid dan lipopolisakarida, sehingga menyebabkan dinding sel bakteri Gram-negatif sulit dipenetrasi oleh zat antibakteri dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Silhavy *et. al.*, 2010).

Aktivitas antibakteri paling tinggi pada waktu inkubasi ke- 30 menit adalah pada bakteri *Bacillus cereus*, diikuti *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Gambar 3). *Bacillus cereus* pada hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang besar, namun mengalami penurunan persentase aktivitas antibakteri. Hal ini dapat disebabkan karena enzim protease yang diproduksi *B.cereus* mereduksi aktivitas antibakteri air seduhan tempe. Roubos-van den Hil *et al.* (2010b) menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak tempe yang diberi supernatant kultur *B. cereus* berumur semalam mengalami penurunan 10% dari aktivitas antibakteri semula. Menurut Priest dalam Roubos-van den Hil *et al.* (2010b), *Bacillus spp.* dapat memproduksi keragaman enzim-enzim ekstraseluler terlarut, termasuk protease yang dapat menonaktifkan komponen aktif.

Pada penelitian ini, *E. coli* terlihat dapat dihambat pertumbuhannya oleh air seduhan tempe, walaupun persentase aktivitas antibakterinya menurun seiring dengan waktu inkubasi. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa senyawa antibakteri pada ekstrak tempe tidak menghambat pertumbuhan *E.coli*. Pada penelitian Affandi dan Mahmud, (1985) *E.coli* sama sekali tidak menunjukkan efek dari aktivitas antibakteri tempe, dimana *Salmonella typhi* masih menunjukkan efek penghambatan dengan adanya ekstrak tempe. Roubos-van den Hil *et al.* (2009) juga menunjukkan bahwa ekstrak



tempe tidak menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* strain ETEC K88. Hal ini dapat disebabkan karena jenis *E.coli* dan *Salmonella typhi* yang digunakan dalam penelitian ini berbeda, mengingat terdapat banyak strain *E.coli* dan *S. typhi* dengan karakteristik yang berbeda-beda.

Karena suhu rendah yaitu suhu 40°C merupakan suhu paling efektif menghasilkan persentase aktivitas antibakteri, maka digunakan suhu 40°C dalam uji pengaruh waktu perendaman terhadap aktivitas antibakteri air seduhan tempe. Perlakuan perendaman dilakukan dengan air suhu 40°C konstan dan suhu awal 40°C selama periode waktu yang ditentukan. Berdasarkan hasil pengaruh waktu pada Tabel 9 dan 10, perlakuan dengan suhu konstan 40°C dengan waktu perendaman 30 menit menunjukkan persentase aktivitas antibakteri yang jauh lebih besar dibandingkan perlakuan suhu awal 40°C dengan waktu perendaman 30 menit. Persentase aktivitas antibakteri pada perendaman waktu 30 menit lebih besar dibanding waktu perendaman yang lebih lama (60 dan 90 menit). Hasil ini menunjukkan bahwa pemanasan dengan suhu konstan 40°C selama 30 menit lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Suhu konstan 40°C dalam penelitian ini lebih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji dibanding suhu awal 40°C. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) yang mengatakan semakin tinggi perlakuan pH dan suhu rendah pada ekstrak tempe maka aktivitas antibakterinya semakin besar. Hal ini dapat disebabkan oleh pH yang terukur pada perlakuan suhu konstan selama 30 menit menunjukkan nilai pH yang tertinggi sehingga tetap dihasilkan aktivitas antibakteri yang lebih besar.

Penurunan pH pada tempe selama waktu perendaman dengan perlakuan suhu konstan 40°C lebih besar dibanding penurunan pH pada tempe perlakuan suhu awal 40°C, namun berakhir dengan nilai pH yang hampir sama (Tabel 11). Penurunan pH ini dikarena pada suhu konstan terjadi pertumbuhan bakteri asam laktat yang lebih banyak, dimana suhu 40°C mendekati suhu optimal pertumbuhannya, yaitu 37°C. Pertumbuhan bakteri asam laktat ini menghasilkan

asam organik yang membuat air seduhan tempe mengalami penurunan pH. Hal ini didukung oleh Samson *et al.* (1987) yang mengatakan bahwa mikroba yang berperan dalam pembuatan tempe adalah kultur campuran yang kompleks, yaitu kapang, khamir, bakteri asam laktat, dan beberapa jenis bakteri lainnya.

Hasil aktivitas antibakteri ekstrak tempe dengan perlakuan suhu 40°C dan waktu perendaman tersingkat, yaitu 30 menit menunjukkan persentase yang lebih besar. Hal ini dikarenakan semakin singkat waktu pemanasan, semakin sedikit komponen antibakteri yang hilang. Seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya oleh Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) bahwa semakin suhu rendah pada ekstrak tempe maka aktivitas antibakterinya semakin besar. Dengan kata lain komponen antibakteri yang merupakan komponen protein ini tidak tahan terhadap panas sehingga durasi pemanasan yang paling singkat akan menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih besar.

Persentase aktivitas antibakteri paling besar didapati pada perlakuan suhu konstan 40°C dengan waktu perendaman 30 pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* (Tabel 9). Kemudian kedua bakteri gram positif ini mengalami peningkatan persentase aktivitas antibakteri, sedangkan bakteri gram negatif mengalami penurunan aktivitas seiring dengan waktu inkubasi. Hal ini sesuai dengan penelitian-penelitian efek anti-bakteri pada Tabel 5, dimana senyawa antibakteri pada tempe hanya aktif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan sporanya. Salah satu penelitian, yaitu yang dilakukan oleh Affandi dan Mahmud (1985) menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang sensitif terhadap keberadaan senyawa antibakteri pada tempe karena masih menunjukkan aktivitas antibakteri setelah tempe mengalami perebusan. Seperti yang sudah dijelaskan Roubos-van den Hil *et al.*, (2010b) bahwa senyawa antibakteri tempe sensitif terhadap panas sehingga pemanasan cenderung menurunkan aktivitas antibakteri.



Hasil penelitian- penelitian mengenai efek antibakteri (Tabel 5) dan hasil pembuktian yang telah dilakukan memperlihatkan bahwa senyawa antibakteri pada tempe aktif terhadap bakteri gram-positif dibanding gram-negatif. Hal ini dikarenakan dinding sel bakteri Gram-negatif lebih kompleks dibandingkan Gram-positif. Bakteri Gram negatif seperti *E. coli* memiliki dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (11-22%). Struktur dinding selnya berlapis tiga (multilayer) yang terdiri atas lipoprotein, membran luar fosfolipid dan lipopolisakarida, sehingga menyebabkan dinding sel bakteri Gram-negatif sulit dipenetrasi oleh zat antibakteri dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Silhavy et. al., 2010). Oleh karena itu, aktivitas antibakteri tempe kedelai pada bakteri uji gram-positif lebih besar daripada bakteri gram negatif.

Pada Tabel 1 diketahui bahwa proses pemasakan tempe (direbus dan digoreng) menurunkan kadar air, kadar abu, protein, dan kadar lemak dalam tempe. Penurunan ini disebabkan karena pengolahan dengan panas (penggorengan dan perebusan) yang dilakukan berlebihan dapat mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi, baik yang diharapkan maupun yang tidak. Reaksi-reaksi tersebut diantaranya denaturasi protein, kehilangan aktivitas enzim, perubahan kelarutan dan hidrasi, perubahan warna, derivatisasi residu asam amino, *cross-linking*, pemutusan ikatan peptida, dan pembentukan senyawa yang secara sensori aktif. Reaksi ini dipengaruhi oleh suhu dan lama pemanasan, pH, oksidator, antioksidan, radikal, dan senyawa aktif lainnya khususnya senyawa karbonil (Winarno, 1997).

Selain itu, perebusan dapat menurunkan nilai gizi karena bahan pangan yang langsung terkena air rebusan sehingga menurunkan zat gizi terutama vitamin-vitamin larut air (seperti vitamin B kompleks dan vitamin C) dan juga protein (Sundari et al., 2015). Namun, nilai gizi dan senyawa antibakteri yang diharapkan dalam penelitian ini perlu terlarut dalam air perendaman. Hasil aktivitas antibakteri tertinggi pada perlakuan suhu perendaman tempe yang rendah (40°C) selama waktu perendaman yang singkat ini menunjukkan bahwa air seduhan tempe mengandung komponen antibakteri berupa protein yang dapat larut air. Hal ini terjadi karena selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe, *Rhizopus* sp.

menghasilkan suatu variasi enzim-enzim pendegradasi karbohidrat, enzim lipase, dan protease yang mendegradasi senyawa-senyawa makronutrien menjadi substansi dengan massa molekul yang lebih rendah dengan kelarutan pada air yang lebih tinggi (Nout dan Kiers, 2005).

#### 4.2. Senyawa Bioaktif Tempe Kedelai sebagai Anti-diare

Bakteri kontaminan dalam tempe, dapat juga berupa bakteri yang berpotensi patogen seperti *S. aureus*, *B. cereus* dan *E.coli* yang juga ditemukan pada tempe (Samsom *et al.*, 1987). Pada penelitian tersebut dihasilkan 10% sampel mengandung *S. aureus* dalam jumlah yang dapat menyebabkan keracunan makanan. Namun, dalam penelitian- penelitian tempe sebagai antidiare menunjukkan adanya efek tempe untuk mengurangi durasi diare pada kelinci, babi dan anak-anak (Roubos-van den Hil dan Nout, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat senyawa lain yang berperan sebagai antidiare, selain dari antibakteri yang terdapat dalam tempe. Mengingat antibakteri dalam tempe yang jumlahnya kecil dan aktivitasnya lebih aktif pada bakteri gram positif seperti pada hasil penelitian yang sudah ada (Tabel 5) dan penelitian air seduhan tempe ini.

Antidiare berkaitan dengan komponen yang mencegah atau mengatasi diare, yang terjadi pada saluran pencernaan yang mengalami kelainan fungsi. Diare merupakan hasil dari tidak normalnya cairan dan transport ion oleh mukosa dalam usus halus atau usus besar. Hilangnya cairan melalui usus merupakan akibat dari malabsorpsi (ketidakmampuan menyerap) atau dan sekresi berlebihan (*hypersecretion*) zat terlarut dan air. Malabsorpsi dapat diakibatkan oleh induksi virus atau kerusakan mukosa oleh invasi bakteri dan parasit. Sekresi berlebihan dapat mengakibatkan hilangnya cairan dan elektrolit dalam jumlah besar. Hal ini umumnya merupakan akibat dari kolonisasi bakteri penghasil enterotoksin pada mukosa usus (Kiers, 2001).

Setelah fermentasi, absorpsi dan daya cerna kedelai meningkat sehingga dapat memberi manfaat fisiologis jika terjadi kerusakan fungsi sistem pencernaan (Kiers *et al.*, 2000). Tingginya daya cerna tempe sudah diteliti selama perang dunia

kedua saat para tahanan yang mengalami disentri dapat mencerna tempe lebih baik daripada kedelai. Hal ini berkaitan dengan degradasi makromolekul oleh enzim selama fermentasi tempe menjadi senyawa yang lebih kecil dan terlarut sehingga memperbaiki daya cerna tempe (Matsuo dalam Nout dan Kiers, 2005). Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pemasakan meningkatkan daya cerna total secara *in vitro* pada kedelai dari 37% menjadi 45%. Sedangkan, fermentasi kapang meningkatkan daya cerna total hanya kurang lebih 3%. Daya cerna tersebut dipengaruhi oleh strain kapang dan waktu fermentasi. Walaupun fermentasi kapang hanya meningkatkan sedikit daya cerna kacang-kacangan yang sudah dimasak, namun tingkat bahan kering yang larut air meningkat dengan drastis, yaitu dari 7 menjadi 27%. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa fermentasi kapang telah meningkatkan daya cerna kedelai.

Kemudian terdapat juga beberapa penelitian mengenai efek penambahan tempe dalam makanan anak-anak yang menderita diare, dimana hasil menunjukkan konsumsi tempe mengakibatkan durasi diare yang lebih pendek (Tabel 3). Oleh karena itu, terdapat potensi untuk menggunakan tempe sebagai bahan formula makanan selama proses penyapihan untuk pencegahan dan pengendalian diare pada anak. Selain itu, tempe penting untuk dikonsumsi seseorang yang mengalami kekurangan gizi dan atau diare akut, dimana penderita memerlukan nutrisi yang mudah dicernanya. Sifat anti-diare pada tempe akan memperlengkapi tempe sebagai makanan ideal untuk pencegahan dan pengendalian malnutrisi dan diare, dimana makanan tersebut sebaiknya tinggi nilai gizi, mudah dicerna, dapat diterima, dan dapat ditoleransi (Nout dan Kiers, 2005).

Penelitian pada Tabel 4 mengenai efek tempe terhadap diare infeksi oleh *E.coli* pada hewan babi muda dan kelinci menunjukkan keparahan yang lebih rendah jika diberi asupan tempe. Selain itu, ekstrak tempe dapat menghambat adhesi bakteri ETEC pada sel-sel epitel usus halus babi dan manusia (*in vitro*) sehingga mencegah dan membantu proses penyembuhan diare. Efek penghambatan ini bukan merupakan hasil dari senyawa antibakteri dalam ekstrak tempe terhadap bakteri ETEC, namun karena adanya sebuah interaksi antara senyawa ekstrak

tempe dan bakteri sehingga bakteri kehilangan kemampuan adhesi terhadap sel-sel usus halus (Roubos-van den Hil *et al.*, 2009).

Efek protektif tempe secara *in vivo* dalam babi muda menyiratkan bahwa aktivitas biologisnya tidak terpengaruh dengan enzim pencernaan (Roubos-van den Hil *et al.*, 2009). Hal ini didukung dengan penelitian selanjutnya oleh Roubos-van den Hil *et al.*, (2010c) dimana senyawa bioaktif pada tempe tidak dipengaruhi oleh dua enzim proteolitik spektrus luas dan pemanasan 100°C. Dari penelitian tersebut mengindikasikan bahwa komponen bioaktif dalam tempe yang menghambat adhesi bakteri ETEC pada sel epitel memiliki sifat karbohidrat.

Interaksi ekstrak tempe dengan bakteri ETEC dapat disebabkan oleh senyawa karbohidrat, yang secara struktur memiliki kemiripan dengan reseptor dari sel epitel sehingga dapat menempel pada bakteri ETEC (Pieter dalam Roubos-van den Hil dan Nout, 2011). Selain itu, komponen protein juga dapat berinteraksi dengan mengikat reseptor di sel epitel usus. Blomberg *et al.* dalam Roubos-van den Hil dan Nout (2011) menunjukkan bahwa komponen protein yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat menurunkan adhesi bakteri ETEC pada mucus ileum babi muda. *Bifidobakteria* juga diketahui menghasilkan komponen protein yang menghambat adhesi ETEC pada sel epitel usus (Fujiwara *et al.* dalam Roubos-van den Hil dan Nout, 2011).

Tempe mengandung polisakarida-polisakarida dinding sel dari kapang dan biji kedelai, namun bioaktivitas tidak disebabkan oleh biomasa kapang. Polisakarida-polisakarida dinding sel dari kedelai sebagian besar didegradasi selama proses fermentasi oleh enzim yang dihasilkan kapang, yang akan meningkatkan kelarutannya (Kiers *et al.* dalam Roubos-van den Hil dan Nout, 2011). Pektin dan rantai arabinogalaktan-nya adalah senyawa dominan yang terlarut selama fermentasi. Karena bioaktivitas dalam ekstrak tempe diukur dalam ekstrak larut air (Roubos-van den Hil *et al.*, 2009), maka peningkatan kelarutan juga bertanggung jawab dengan tingginya bioaktivitas dalam ekstrak tempe dibanding dengan ekstrak kedelai (Roubos-van den Hil dan Nout, 2011). Penelitian lebih lanjut

mengenai bioaktivitas air seduhan tempe terhadap penghambatan adhesi ETEC perlu dilakukan untuk mengetahui manfaatnya sebagai anti-diare.

Roubos-van den Hil *et al.*, 2010c menyatakan bahwa setelah proses *defatting*, ultrafiltrasi, perlakuan protease, dan pemanasan, ekstrak tempe mengandung arabinosa, galatosa, dan asam galakturonat dalam jumlah yang banyak. Hasil detail menunjukkan bahwa unsur monosakarida yang penting sebagai komponen bioaktif adalah arabinosa. Arabinosa adalah komponen penting dalam polisakarida-polisakarida dinding sel pektin dari kacang kedelai. Komponen bioaktif ini terbentuk selama proses fermentasi kacang-kacangan dan tidak aktif pada tempe dari sereal (Roubos-van den Hil *et al.*, 2010d)

Tempe difermentasi secara tradisional dengan kapang, khususnya *Rhizopus* sp., namun terdapat juga mikroorganisme lain yang dapat bertumbuh dalam tempe seperti bakteri asam laktat (BAL), *Bacillus* sp., dan khamir (Nout dan Rombout, 1990). Pada penelitian Roubos-van den Hil *et al.* (2010d) *Bacillus* sp., kapang, dan beberapa khamir dapat mendegradasi makronutrisi dari kacang kedelai dan menunjukkan bioaktivitas dengan menghambat adhesi ETEC pada sel epitel usus. Namun, fermentasi bakteri asam laktat dalam tempe hanya menghasilkan asam laktat, tidak mendegradasi makromolekul kedelai, dan juga tidak menunjukkan bioaktivitas. Pada penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak tempe kedelai menghambat adhesi beberapa strain ETEC yang sering menyebabkan diare, sehingga bioaktivitas dalam tempe ini tidak terbatas pada satu strain ETEC.

Selain menghambat adhesi ETEC pada dinding usus, efek diare yang mengakibatkan hilangnya cairan dan elektrolit juga dapat diminimalkan. Pada penelitian Kiers *et al.* (2006), ekstrak tempe dapat meminimalkan hilangnya cairan pada segmen usus yang terinfeksi ETEC sehingga menjaga keseimbangan cairan selama infeksi. Hal ini didukung oleh penelitian lebih lanjut oleh Kiers *et al.* (2007), dimana didapati fraksi larut dengan berat molekul tinggi (>5kDa) pada ekstrak tempe yang dapat mencegah kehilangan cairan akibat infeksi ETEC pada usus.